

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17832

研究課題名(和文)原爆被爆者に見られるクローン性造血の解析

研究課題名(英文)Analysis of clonal hematopoiesis in A-bomb survivors

研究代表者

佐藤 信也 (Sato, SHINYA)

長崎大学・病院(医学系)・講師

研究者番号：70763754

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):原爆放射線は造血器悪性腫瘍である白血病や骨髄異形成症候群の発症リスクを上昇させる。一方、近年骨髄異形成症候群などの前病変としてCHIPの存在が明らかとなり、健常人でのクローン性造血が注目されている。本研究の目的は造血器疾患を有さない原爆被爆者におけるCHIPを解析し、原爆放射線による造血器腫瘍発症機序を明らかにすることである。本研究によって、原爆被爆者では従来報告されているCHIP関連遺伝子変異ではなくクローン数異常によりクローン性造血を獲得している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近距離被爆者に発症した骨髄異形成症候群において高頻度に同定される特徴的なゲノム変異が同定されており、原爆放射線によるゲノム変異が生涯にわたり造血器腫瘍の発症リスクと関連している可能性が示唆されているが、造血器疾患を有さない被爆者がどのような遺伝子変異やクローン性造血を有しているかは不明であった。本研究成果は原爆被爆者と非被爆者では異なる機序でクローン性造血を獲得している可能性を示唆するものであり、今後、放射線関連造血器疾患の発症メカニズムの解明に貢献できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文):A-bomb radiation increases the risk of leukemia and myelodysplastic syndromes (MDS), which are malignant hematopoietic tumors. On the other hand, clonal hematopoiesis of indeterminate significance (CHIP) has recently been found as a precursor to myelodysplastic syndromes, and clonal hematopoiesis in healthy individuals has attracted attention. The purpose of this study is to analyze CHIP in A-bomb survivors without hematopoietic diseases and to elucidate the mechanism of A-bomb radiation-induced hematopoietic tumorigenesis. The present study suggests that A-bomb survivors may have acquired clonal hematopoiesis due to abnormal clone number, rather than CHIP-related genetic mutations as previously reported.

研究分野：血液内科学

キーワード：原爆被爆者 CHIP MDS

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndromes : MDS) は難治性血球減少と急性骨髄性白血病への移行を特徴とする疾患である。MDS の造血幹細胞にはさまざまな遺伝子変異が存在することが示されており、それらの遺伝子変異の蓄積により MDS が発症・進展すると報告されている。近年、血液学的に異常の無い人の末梢血を対象に全エクソンシーケンスによる体細胞変異の解析が行われ、MDS に関連する遺伝子変異をもつクローン性造血が一定の頻度で認められることが報告された。また、DNMT3A、TET2、ASXL1 など MDS で変異がみられるドライバー遺伝子の体細胞変異を認めた場合は造血器腫瘍の発症のリスクが高まることが報告され、MDS の前駆病変となっていると考えられている^{1,2)}。現在こうした現象は Clonal hematopoiesis of indeterminate significance (CHIP)と呼ばれている。

研究代表者らは、これまで原爆被爆者の造血器腫瘍に関する長期かつ広汎な疫学調査、病態研究を行ってきた。その結果、被爆後 70 年以上経った現在においても原爆放射線被ばくは若年被爆者 (被爆時年齢 20 歳未満) において MDS 発症の有意なリスクであることを明らかにしてきた^{3,4)}。原爆放射線による MDS 発症の詳細な機序は未だ明らかになっていないが、我々の研究では、近距離被爆者に発症した MDS において高頻度に同定される特徴的なゲノム変異が同定されており⁵⁾、原爆放射線によるゲノム変異が生涯にわたり造血器腫瘍の発症リスクと関連している可能性が示唆されている。しかし、血液学的に異常の無い被爆者がどのような遺伝子変異を、どの程度の頻度で有しているかは全く調べられていない。

2. 研究の目的

本研究は血液学的に異常の無い被爆者の血液細胞における遺伝子変異や頻度を次世代シーケンサーを用いて解析し、そこに見られる CHIP に関して、(1) 被曝距離別すなわち被曝放射線量毎の比較、(2) 被爆者 MDS や非被爆者 MDS の体細胞ゲノム変異と比較することで、被爆者 MDS の発症機序に迫ることを目的とする。また、被爆時の状況 (年齢、被曝距離、急性期症状の有無など) や合併症とゲノム変異の関連についても統計的に解析する。

3. 研究の方法

本研究の対象は、造血器悪性腫瘍や固形癌の既往がない被爆者のうち被曝距離が 1km 未満で被爆時若年者であった 81 名、および、非被爆者 20 名である。

- (1) 被爆者(NHC)および非被爆者(NGC)の臨床検体 (末梢血) から genomic DNA を抽出する。
- (2) 次世代シーケンスを用いて以下の 2 つの解析を行うことで、血液学的に健常な被爆者の遺伝子変異を明らかにする。

全エクソンシーケンスによる遺伝子変異およびアレル頻度の同定。

SNP アレイによるコピー数解析

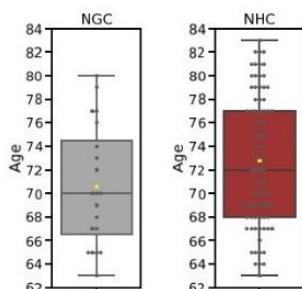
- (3) 取得済みの被爆者 MDS や非被爆者 MDS の体細胞遺伝子変異と比較することで、血液学的に健常な被爆者に特徴的な遺伝子変異やその頻度を同定する。また、被爆時の状況 (年齢、被曝距離、急性期症状の有無など) や合併症と遺伝子変異の関連について統計的に解析する。

4. 研究成果

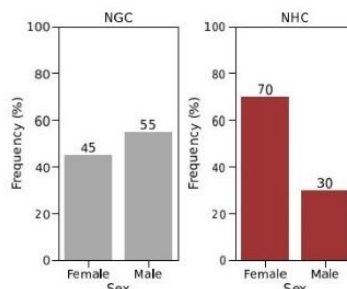
研究代表者らは、造血器悪性腫瘍や固形癌の既往がない被爆者のうち被曝距離が 1km 未満で被爆時若年者(NHC)であった 81 名、および、非被爆者(NGC)20 名を解析した。

(1) 年齢の中央値は被爆者群 70 歳、非被爆者群 72 歳と両群で有意な違いはなかったが、男女比は非被爆者群で女性の割合が高かった。

Median age (yrs): NGC 70, NHC 72
(p-value = 0.1191, Mann-Whitney U test)

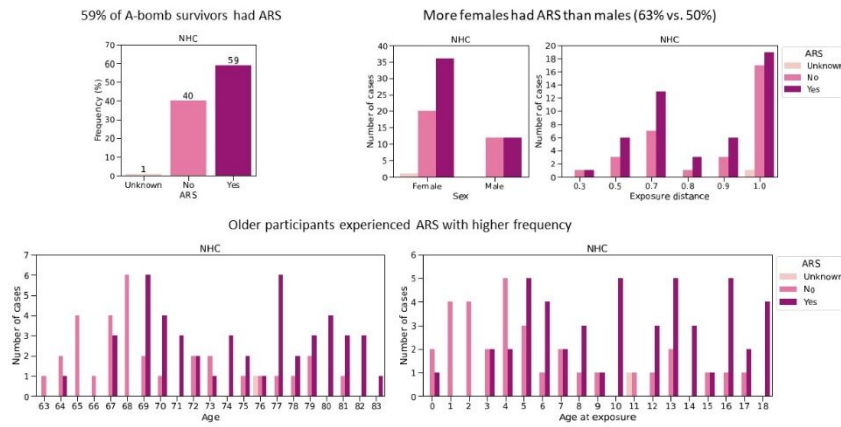


Higher proportion of female in NHC
(p=0.03943, Fisher's exact test)

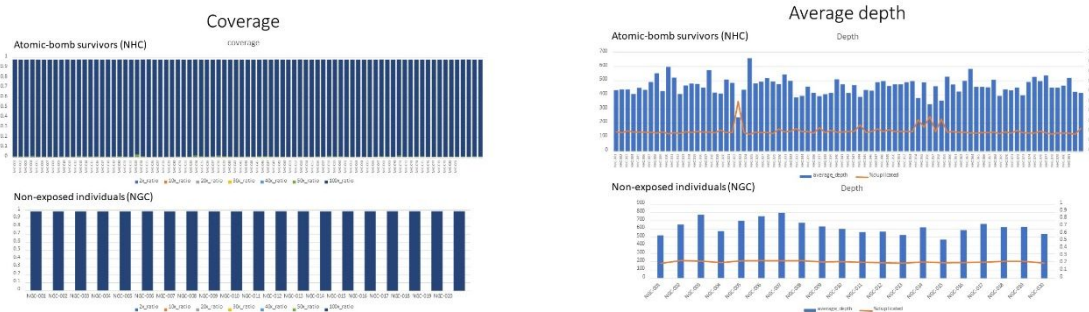


(2) 急性放射線症候群 (ARS) は 59% に認められたが、被爆距離や性別、被爆時の年齢では有意差は認めなかった。

Acute radiation syndromes (ARS)



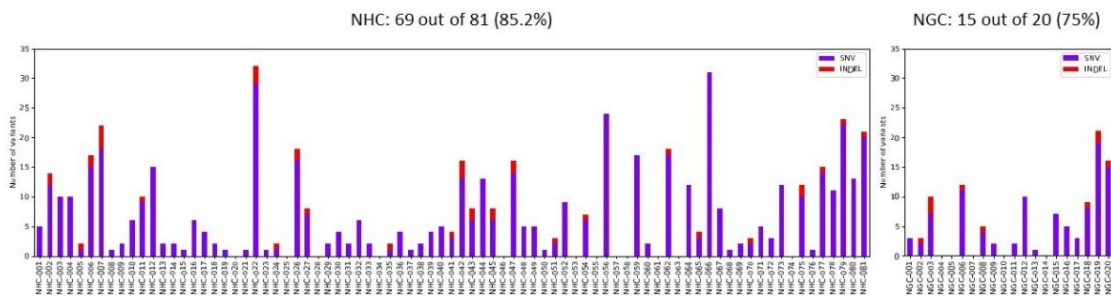
(3) 全エクソンシーケンスの Coverage 被爆者、非被爆者ともに十分であった。Average depth の中央値は被爆者 351、非被爆者 504 であった。



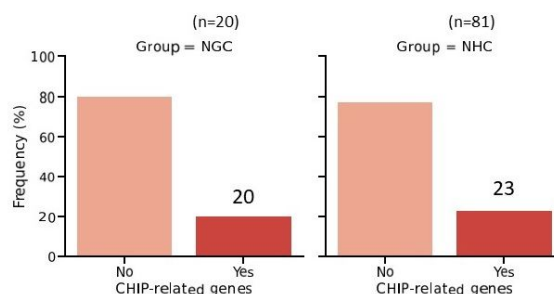
次世代シーケンスによって計 285 個の変異が検出され、造血器腫瘍の発症や病態、予後に関連のある 171 遺伝子を CHIP 関連遺伝子変異 (CHIP-mut) として同定した (図示なし)。

< 原爆放射線がクローン性造血に与える影響の検討 >

(1) 原爆被爆者 (NHC) では非被爆者 (NGC) と比較しクローン性造血 (CH; 1 variants) の頻度が比較的高かった (85.2% vs 75%, $p=0.3191$)。

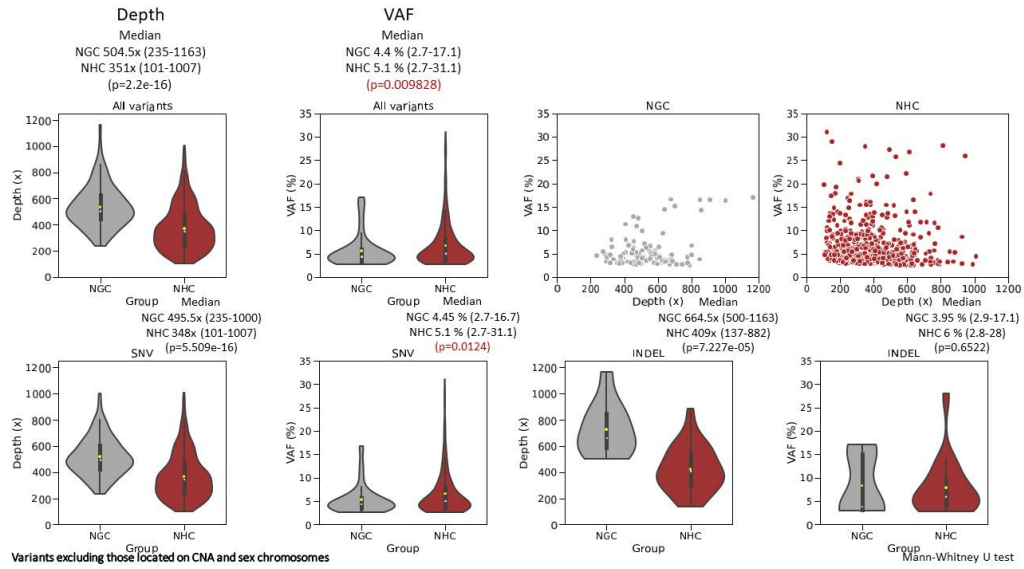


(2) CHIP-mut を有する症例の頻度は、原爆被爆者と非被爆者の間で有意差を認めなかった。 (NGC 20% vs. NHC 23%, $p=1.0$)

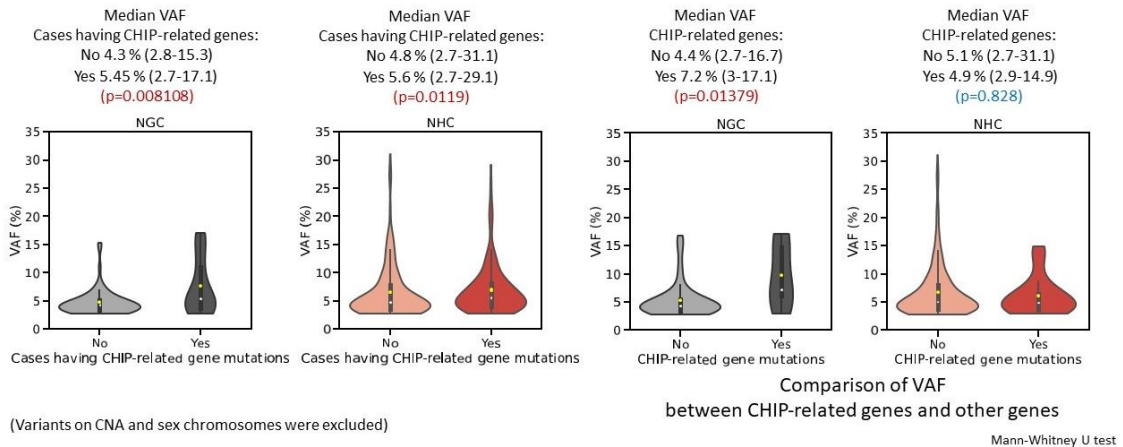


<原爆放射線がクローン性造血のクローンサイズに与える影響の検討>

(1) 原爆被爆者では非被爆者と比較して VAF が有意に高かった。

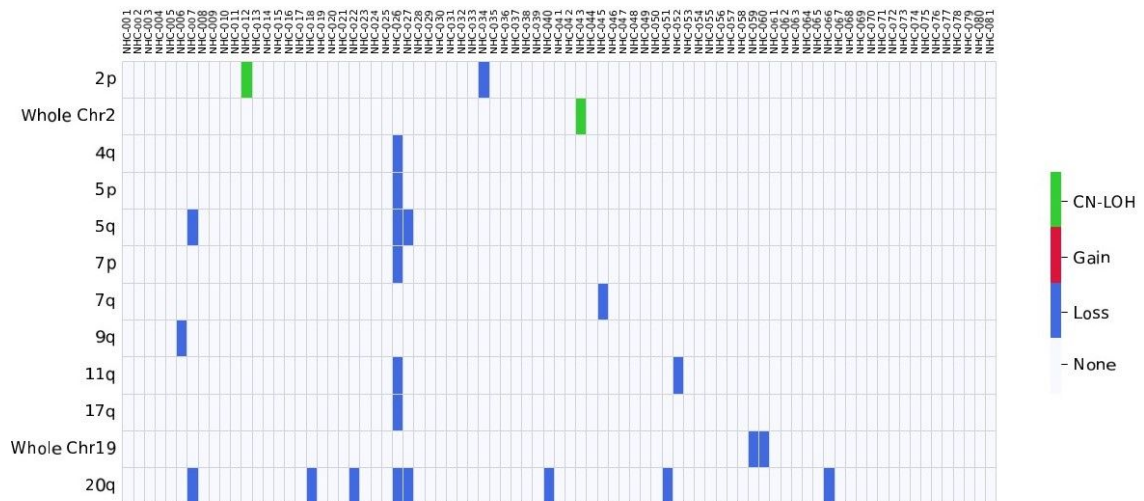


(2) 非被爆者の CHIP-mut は非 CHIP-mut に比べて VAF が有意に高かったが、原爆被爆者では CHIP-mut とそれ以外で VAF に差がなかった。

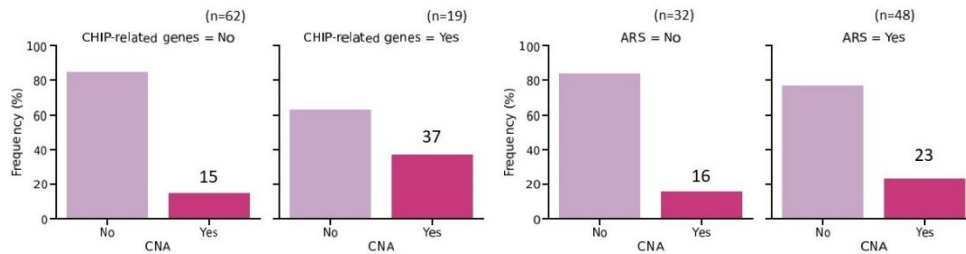


<原爆放射線がクローン性造血におけるクローン数異常(CNA)に与える影響の検討>

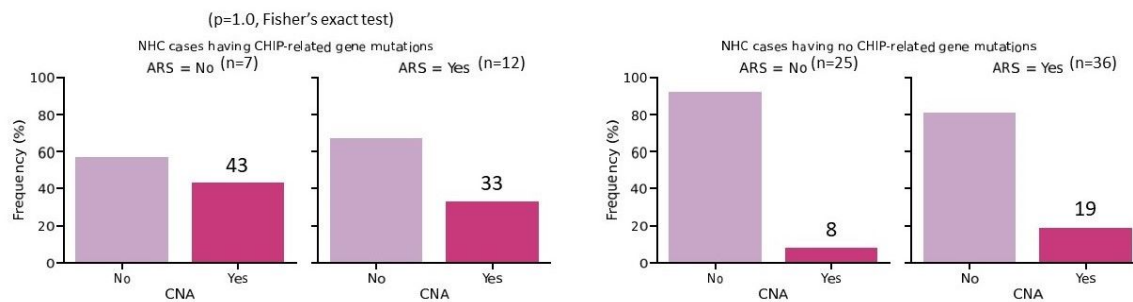
(1) 原爆被爆者 81 名中 16 名(19.8%)に CNA を認めた。また、3 名(3.7%)に複数の CNA を認めた。CNA のうち、del120q を 8 名(9.88%)、del11q を 2 名(2.5%)に認めた。



(2) 原爆被爆者ではCHIP-mutを有する症例は、CHIP-mutを有しない症例と比較して、CNAを有する割合が高かった(37% vs 15%, $p=0.04771$)。



(3) 原爆被爆者でCHIP-mutを有する場合、ARS陽性例と陰性例でCNAの頻度に差はなかったが、CHIP-mutを有さない場合、ARS陽性例の方がCNAの頻度が高かった(19% vs 8%, $p=0.2862$)。



以上のように、原爆被爆者では非被爆者と比較しクローン性造血の頻度が比較的高かった。原爆被爆者では非被爆者と比較して VAF が有意に高く、原爆放射線がクローン性造血のサイズに与える影響が示唆された。また、非被爆者のCHIP-mutは非CHIP-mutに比べてVAFが有意に高かったが、原爆被爆者ではCHIP-mutとそれ以外でVAFに差を認めず、原爆被爆者では非CHIP-mutまたは他のメカニズムがクローン拡大に影響を与えていることが示唆された。さらに、原爆被爆者でCHIP-mutを有する場合、ARS陽性例と陰性例でCNAの頻度に差はなかったが、CHIP-mutを有さない場合、ARS陽性例の方がCNAの頻度が高く、原爆放射線がCNAの獲得やクローンの拡大に影響を与える可能性が示唆された。

本研究成果は、原爆被爆者と非被爆者では異なる機序でクローン性造血を獲得している可能性を示唆しており、今後、放射線関連造血器疾患の発症メカニズムの解明に貢献できるものと考えられる。

- 1) Jaiswal S. et al, N Engl J Med. 2014;371
- 2) Genovese G. et al, N Engl J Med. 2014;371
- 3) Hsu WL. et al, Radiat Res. 2013;179:3
- 4) Iwanaga M. et al, J Clin Oncol. 2011;29:4
- 5) Taguchi M. et al, Haematologica. 2020;105:2

原爆放射線は造血器悪性腫瘍である白血病や骨髄異形成症候群の発症リスクを上昇させる。一方、近年骨髄異形成症候群などの前病変としてClonal hematopoiesis of indeterminate significance (CHIP)の存在が明らかとなり、健常人でのクローン性造血が注目されている。本研究の目的は造血器疾患を有さない原爆被爆者におけるCHIPを解析し、原爆放射線による造血器腫瘍発症機序を明らかにすることである。本研究によって、原爆被爆者では従来報告されているCHIP関連遺伝子変異ではなくクローン数異常によりクローン性造血を獲得している可能性が示唆された。

原爆被爆者と非被爆者では異なる機序でクローン性造血を獲得している可能性があり、今後、放射線関連造血器疾患の発症メカニズムの解明に貢献できるものと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Taguchi M, Mishima H, Shiozawa Y, Hayashida C, Kinoshita A, Nannya Y, Makishima H, Horai M, Matsuo M, Sato S, Itonaga H, ato T, Taniguchi H, Imanishi D, Imaizumi Y, Hata T, Takenaka M, Moriuchi Y, Shiraishi Y, Miyano S, Ogawa S, Yoshiura K, Miyazaki Y	4. 巻 105
2. 論文標題 Genome analysis of myelodysplastic syndromes among atomic bomb survivors in Nagasaki	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Haematologica	6. 最初と最後の頁 358-365
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3324/haematol.2019.219386.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Y, Kiguchi T, Sato S, Usuki K, Ishiyama K, Ito Y, Suzuki T, Taguchi J, Chiba S, Dobashi N, Tomita A, Harada H, Handa H, Horiiike S, Maeda T, Matsuda M, Ichikawa M, Hata T, Honda S, Iyama S, Suzushima H, Moriuchi Y, Kurokawa T, Yokota K, Ohtake S, Yamauchi T, Matsumura I, Kiyoi H, Naoe T	4. 巻 116
2. 論文標題 Prospective comparison of 5- and 7-day administration of azacitidine for myelodysplastic syndromes: a JALSG MDS212 trial	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 228-238
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12185-022-03347-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Toriyama E, Hata T, Yokota KI, Chiwata M, Kamijo R, Hashimoto M, Taguchi M, Horai M, Matsuo M, Matsuo E, Takasaki Y, Kawaguchi Y, Itonaga H, Sato S, Ando K, Sawayama Y, Taguchi J, Imaizumi Y, Tsushima H, Jo T, Yoshida S, Moriuchi Y, Miyazaki Y.	4. 巻 111
2. 論文標題 No clear survival benefit of azacitidine for lower-risk myelodysplastic syndromes: A retrospective study of Nagasaki.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4490-4499
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14653.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Takaoka K, Koya J, Yoshimi A, Toya T, Kobayashi T, Nannya Y, Nakazaki K, Arai S, Ueno H, Usuki K, Yamashita T, Imanishi D, Sato S, Suzuki K, Harada H, Manabe A, Hayashi Y, Miyazaki Y, Kurokawa M.	4. 巻 61
2. 論文標題 Nationwide epidemiological survey of familial myelodysplastic syndromes/acute myeloid leukemia in Japan: a multicenter retrospective study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Leukemia Lymphoma	6. 最初と最後の頁 1688-1694
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/10428194.2020.1734595.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------